

前 言

本标准代替 GB 5040—1985《柑桔苗木产地检疫规程》。

本标准与前版标准相比有如下变化：

修订后的标准在检疫性有害生物中增加了 1995 年农业部新公布的检疫对象；在有害生物的检测方法、防疫措施、药剂控制、田间鉴别等方面，增加了一些新的内容与技术；引进了国际植物检疫措施标准中关于无疫产地及非疫产地生产点理念，名词术语和概念与有关国际标准保持一致。同时，对前版标准部分条文中的一些提法做了适当修改。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C 均为规范性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由农业部种植业管理司归口。

本标准主要起草单位：全国农业技术推广服务中心。

本标准参加起草单位：农业部柑桔苗木检测中心、四川省植物检疫站、湖北省植物检疫站、浙江省植物检疫站、四川省资中县植保植检站。

本标准主要起草人：赵守歧、雷慧德、刘元明、林云彪、赵兰鸽、张碧兰。

本标准委托全国农业技术推广服务中心负责解释。

本标准 1985 年首次发布，本次为第一次修订。

柑桔苗木产地检疫规程

1 范围

本标准规定了柑桔苗木产地的检疫性有害生物种类、苗木培育、现场检验、室内检验、检验结果报告、疫情处理及签证等。

本标准适用于实施柑桔产地检疫的植物检疫机构和所有柑桔种苗繁育单位(个人)。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

产地

因植物检疫的目的而单独管理的生产点。

2.2

产地检疫

植物检疫机构在原产地生产过程中的全部检疫工作,包括田间调查、室内检验、签发证书及监督生产单位做好选地、选种和疫情处理工作。

2.3

有害生物

任何对植物或植物产品有害的植物、动物或病原物的种、株(品)系或生物型。

2.4

检疫性有害生物

对受其威胁的地区具有潜在经济重要性、但尚未在该地区发生,或虽已发生但分布不广并进行官方防治的有害生物。

3 检疫性有害生物

柑桔黄龙病菌 *Liberobacter asiaticum* (Citrus Huanglongbing)

柑桔溃疡病菌 *Xanthomonas campestris* pv. *citri* (Hasse) Dye

柑桔大实蝇 *Bactrocera* (*Tetradacus*) *minax* Enderlein

蜜柑大实蝇 *Bactrocera* (*Tetradacus*) *tsuneonis* (Miyake)

柑桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel)

4 无检疫性有害生物苗木的培育

4.1 检疫申报

柑桔苗木的繁育单位或个人,必须填交产地检疫申报表(见表1),经当地植物检疫机构审核同意后方可进行繁育。

表 1 产地检疫申报表

申报号:

作物名称:

申报单位(农户):

联系人:

联系电话:

地址:

种植地点	种植地块 编 号	种植面积/ 667 m ² (亩)	品种	种苗来源	预计播期	预计种苗数 量/kg(株)	隔离条件
合计							
植物检疫机构审核意见:							
审核人:				植物检疫专用章 年 月 日			
注 1: 本表一式二联, 第一联由审核机关留存, 第二联交申报单位。 注 2: 本表仅供当季使用。							

4.2 苗圃地的选定

4.2.1 选在无检疫性有害生物地区。

4.2.2 在柑桔黄龙病发生区, 苗圃地要符合下列条件之一:

- a) 在平原地区, 周围 3 km 以上无柑桔类植物;
- b) 在山区、大河、湖泊等有自然屏障的地区, 周围 1.5 km 以上无柑桔类植物;
- c) 在具有防虫网的室内封闭式育苗, 防虫网进出口具有缓冲隔离间。

4.2.3 在柑桔溃疡病发生区, 苗圃地周围 1 km 以内无柑桔类植物。

4.3 繁殖材料的采集和消毒

消毒技术见附录 A。

4.4 苗圃母本圃的建立

消毒技术见附录 B。

4.5 苗圃防疫措施

4.5.1 禁止携带未经消毒的柑桔种子、苗木和果实进入苗圃。

4.5.2 苗圃内使用的工具要新置专用, 使用后要用 10% 漂白粉水溶液或 1% 次氯酸钠溶液消毒, 用清水冲洗后晾干备用。

4.5.3 严格防除柑桔木虱。

4.5.4 凡外出到别的苗圃或柑桔园归返人员进入苗圃前, 要换穿备用工作服、鞋帽。

5 现场检验

5.1 由植物检疫人员在苗木夏梢转绿后、秋梢转绿后和出圃前进行产地检查。对苗圃周围柑桔园的蛆果和苗圃内挖到的虫蛹要仔细检查, 必要时应待虫蛹羽化后再进行室内鉴定。

5.2 在全面目测检查的基础上, 用随机取样法检查(取样 10 个以上)。苗木在 1 万株以下查全部, 1 万株至 10 万株查 30%, 10 万株以上查 15%。

5.3 记录检查结果, 详细填写产地检疫田间调查记录表(见表 2)。

表 2 柑桔苗木产地检疫田间调查记录表

调查日期		接穗来源	
育苗单位		繁育地点	
砧木品种		接穗品种	
育苗时间		苗木数量	
消毒方法			
隔离条件			
调查株数		可疑株数	黄龙病
			溃疡病
田间调查情况(检疫性有害生物发生情况)			
调查人			

5.4 柑桔苗木调运时,100 株以下全部检查;10 000 株以下抽样检查 6%~10%;10 000 株以上抽样检查 3%~5%。

6 室内检验

6.1 发现有检疫性有害生物的可疑样本,现场又难以确切诊断的,应将被害苗木、病残体或害虫标样及时送回实验(检验)室确诊鉴定。

6.2 柑桔检疫性有害生物识别鉴定见附录 C。

7 检验结果

由植物检疫实验(检验)室对送检样品进行检验后,应出具《检疫检验报告单》(见表 3)。

表 3 检疫检验报告单

对应申报号		样本编号		取样日期	
植物名称		品种名称		取样部位	
检验方法					
检验结果					
备注					
检验人(签名) 审核人(签名)					单位盖章 年 月 日

8 疫情处理

8.1 发现检疫性有害生物,由植物检疫机构签发《植物检疫处理通知书》(表4),通知管理人进行处理,并派人监督执行。

表4 植物检疫处理通知书

检()字第 号

单 位			
联系人		联系电话	
植物名称		种植地点	
种植面积		种苗数量	kg(株)
检验结果			
处理意见			
检疫员(签字):	站长(签字):	植物检疫站(盖章)	
年 月 日			
注:第一联交申报单位(人),第二联留植物检疫机关。			

8.2 发现柑桔黄龙病病株,应立即挖除烧毁,并喷药防治苗圃及其周围的柑桔木虱。

8.3 发现柑桔溃疡病病株,应立即挖除烧毁,对周围苗圃连续2~3年在春梢、秋梢萌发期监测,并选用可杀得、叶青双等杀菌剂喷药保护。

8.4 严格禁止柑桔大实蝇、蜜柑大实蝇、柑桔小实蝇发生区内的苗木外运。

9 签证

经田间产地检疫和必要的室内检验,未发现柑桔黄龙病、柑桔溃疡病、柑桔大实蝇、蜜柑大实蝇、柑桔小实蝇的苗木、枝条可签发《产地检疫合格证》(见表5),此证只证明该批苗木接穗不带本规程规定的检疫性有害生物,调运时,需要根据调入地检疫要求确定是否进一步检疫或直接签发检疫证书。

表 5 产地检疫合格证

有效期至 年 月 日

检疫日期 年 月 日

() 检() 字第 号

作物名称		品种名称	
种植面积		田块数目	
种苗数量	kg(株)	种苗来源	
种植单位		负责人	
检疫结果	签发机关(盖章) 检疫员		
注 1: 本证第一联交生产单位凭证换取植物检疫证书,第二联留存检疫机关备查。 注 2: 本证不作《植物检疫证书》使用。			

附录 A

(规范性附录)

繁殖材料的采集和消毒技术

A.1 种子消毒

A.1.1 器材

超级恒温器,1台;水桶,1个;保温茶桶,1个;煮水锅,1个;种子铁网笼(或纱网袋),1个;标准温度计,1支;普通温度计,1支。

A.1.2 消毒步骤

A.1.2.1 在恒温器内注入 55℃~56℃ 热水,并使之自动控制 在 55℃±0.3℃ 之内,若用保温茶桶注入水温略高一点的热水,使桶内水温达到 55℃~57℃(不高于 57℃);

A.1.2.2 柑桔种子用铁网或纱网袋装好,置于 50℃~52℃ 热水中预浸 5 min~6 min;

A.1.2.3 取出立即投入恒温器或保温茶桶内,投入种子后注意并记录水温变化,使水温保持在 55℃±0.3℃ 之内处理 50 min;

A.1.2.4 处理完毕取出立即摊开冷却,稍晾干,即可播种或贮藏。

A.1.3 其他

凡接触已消毒种子的人员,必须先用肥皂洗手,盛种子器皿不带柑桔溃疡病菌。

A.2 接穗采集和消毒

A.2.1 采集

接穗采自无病区、病区内隔离健康老树和 6 年生以上无病果园中的健康植株。

A.2.2 消毒

A.2.2.1 器材

水桶,1个;水盘,1个;消毒用塑料盘(或桶)4个;方盘2个;放大镜3个;500 mL 量筒(或量杯)1个;四环素若干;链霉素若干;酒精适量;草纸适量。

A.2.2.2 消毒步骤

A.2.2.2.1 用放大镜逐条检查接穗,淘汰带病虫芽条;

A.2.2.2.2 配 1 000 单位/mL 盐酸四环素液备用;

A.2.2.2.3 把接穗置于四环素液中浸 2 h,浸渍过程中需经常捣动接穗,驱除接穗切口、叶痕和芽眼上的气泡,浸渍后用清水冲洗,然后取出转入 A.2.2.2.4;

A.2.2.2.4 在 700 单位/mL 硫酸链霉素和 1%乙醇的混合液中浸 30 min,取出静置 20 min~30 min,清水冲洗,摊开,晾干表面水分,用清洁草纸包装保湿贮藏或嫁接。

A.2.3 其他

凡需接触消毒后接穗的人员,必须先用肥皂洗手,包装材料不带柑桔溃疡病菌。

附 录 B
(规范性附录)
母本四接穗消毒技术

B.1 器材

恒温接穗消毒箱或超级恒温器,1台;水桶,1个;链霉素,200万单位;量筒(500 mL),1个;标准温度计,1只;普通温度计,1只;清洁草纸;纱布;放大镜,3个。

B.2 消毒步骤

B.2.1 用放大镜仔细检查接穗,除去带病斑的芽条。

B.2.2 消毒箱加温(水浴加温),使箱内湿热空气达 49°C ,并保持 $49^{\circ}\text{C} \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ 。

B.2.3 把接穗倒置放入消毒箱内,迅速加盖,待温度回升至 49°C 时,开始计算处理时间,保持 $49^{\circ}\text{C} \pm 0.3^{\circ}\text{C}$,并维持50 min。

B.2.4 处理完毕,把接穗立即取出,转入 $38^{\circ}\text{C} \sim 40^{\circ}\text{C}$ 含1%乙醇的700单位/mL链霉素溶液中(即每100 mL链霉素加入1 mL乙醇),浸30 min。

B.2.5 取出后在洁净的器皿上放置20 min~30 min,冲洗,表面水分晾干后用纱布保存待用。

附录 C

(规范性附录)

柑桔检疫性有害生物识别鉴定

C.1 柑桔溃疡病

C.1.1 症状检查

C.1.1.1 叶片症状:病斑初时针头大、黄白色、油渍状,扩大后叶片病斑两面隆起,中心破裂,呈海绵状,灰白色,后来病部木栓化,表面粗糙,呈灰褐色火山口状开裂。病斑多近圆形,坏死区外可见圈,周围有黄色晕环,老叶上病斑的黄色晕环有时不明显。

C.1.1.2 枝条症状:病斑近圆形,灰褐色表面粗糙、突起、无黄色晕环,几个病斑常连成不规则的斑块。干燥情况下,溃疡病斑海绵状、木栓化,隆起、表面破裂;表面完整,边缘油渍状。抗性品种在病健交界处以形成愈伤组织层,通过用刀切去外部软木塞状物质而留下粗糙表面,可以确认为溃疡病。

C.1.2 病理解剖

选取新鲜幼小病斑,从病健交界处徒手切成薄片,滴一滴蒸馏水进行镜检,若有呈雾状菌浓溢出,见到组织细胞溃烂,形成空腔,病健部组织之间无离层,可确定为溃疡病。

C.1.3 分离

C.1.3.1 取小块病组织用无菌水冲洗后放入 0.5 mL~2.0 mL 无菌水,用灭菌玻棒研碎,在室温下浸泡 15 min~20 min,将抽提液在营养琼脂培养基上划线分离。在看不到症状的情况下,用无菌水洗涤叶片(10 片以上),离心浓缩后做适当稀释,在 28℃ 人工培养基上(20 个培养皿以上划线)培养,挑取单菌落。

C.1.3.2 适宜的分离培养基为 BPG(牛肉浸膏 3.0 g,蛋白胨 5.0 g,葡萄糖 2.5 g,琼脂 16.0 g)。

C.1.3.3 柑桔溃疡病菌培养基上,菌落圆形,黄色,有光泽,全缘,稍隆起,粘稠。菌体短杆状,常连成链状,大小为(0.5~0.7) μm × (1.5~2.0) μm ,两端圆,极生单鞭毛,能运动,有荚膜,无芽孢,革兰氏染色阴性。

C.1.4 离体叶片富集

采集温室中生长的感病品种柑桔苗的幼顶叶,用自来水冲洗 10 min,1%次氯酸钠溶液表面消毒 1 min~4 min,在无菌条件下用灭菌蒸馏水彻底冲洗,然后针刺叶片背面造成伤口,背面朝上放于盛有 1%水芹菜的培养皿中,每个伤口(5 个~10 个针眼)加 10 μL ~20 μL 病斑水抽提液,在 25℃~30℃ 有光条件下培养 5 天~7 天后,观察针刺伤口的反应,通常一周内形成典型的组织进裂症状。如果需要做菌原分离,方法同上。

C.1.5 血清学检验

C.1.5.1 抗血清制备:由经检疫机构确认的单位统一提供标准抗血清。

C.1.5.2 酶联检测(ELISA):由经检疫机构确认的单位提供诊断试剂盒,按统一方法检测。

C.1.5.3 免疫荧光测定(IF):由经检疫机构确认的单位提供诊断试剂盒,按统一方法检测。

C.1.6 致病性鉴定

用分离培养得到的可疑菌或血清学鉴定阳性菌株,接种感病柑桔的苗木,最终鉴定柑桔溃疡病。

C.2 柑桔黄龙病

C.2.1 主要诊断依据是田间出现的“叶片斑驳型黄化”和“黄梢”。叶片斑驳型黄化即叶片转绿后从主、侧脉附近和叶片基部开始黄化,黄化部分扩展形成黄绿相间分布不均的斑驳,后来可以全叶黄化。黄梢即在发病初期,绿色树冠上少部分新梢枝叶黄化。

C.2.2 田间症状难以确诊的,可采集样本送检疫实验(检验)室,运用 PCR 技术进行检测。

C.3 柑桔大实蝇

C.3.1 用肉眼或低倍放大镜检查柑桔苗圃周围桔园果实外部有无产卵孔、幼虫脱果孔。

C.3.1.1 产卵孔：因品种不同，表现症状各不相同。

甜橙：产卵孔多在果腰或腰脐之间，其周围果皮呈乳状凸起，凸起部分果皮油胞细密，光滑，手触顶手；中央内缩下陷呈黑色小孔，四周有木栓化白色放射状裂纹；被害果产卵孔附近有未熟先黄，黄中带红的现象。

红桔：产卵孔多在脐部，但也有在果腰的。产卵孔周围果皮不凹陷，微凸，呈一小黑点，手触微有顶手感，有未熟先黄现象。

柠檬：产卵孔多在果腰部，其周围果皮微凸，有一个小黑点，手触微顶手感。果实未见未熟先黄现象。

柚子：产卵孔多在蒂部，其周围果皮向内呈圆形或长椭圆形凹陷，中央内缩呈暗色深孔，个别有木栓化灰白色小裂纹。未熟先黄现象不明显。

注意与蜂象为害及机械刺伤的区别。蜂象危害及机械刺伤刺点不突出，也不凹陷，横剖白皮层无晕圈，瓢瓣完整。

C.3.1.2 脱果孔：孔内大小外，深达瓢瓣，外缘整齐光滑（注意与吸果夜蛾成虫刺孔的区别：吸果夜蛾刺孔内外大小一致，边缘多数整齐，有时有汁液溢出。与卷叶蛾幼虫蛀孔的区别：卷叶蛾幼虫蛀孔外大内小，一般只达白皮层，边缘呈锯齿状，有时有白色丝状物）。

C.3.2 幼虫：体长15 mm~17 mm，圆锥形，前小后大，乳白色，光亮。前气门扇形，前缘中间下凹，有30个左右的指突（注意与蜜柑大实蝇幼虫的区别。蜜柑大实蝇幼虫前气门“T”字形，两边略弯曲，有33个~35个指突，与小实蝇的区别在于小实蝇的幼虫前气门呈环柱形，有10个~13个指突），后气门肾脏形，气门板上有3个长椭圆形裂口，外侧有4丛细毛群（外露气管丛），内侧中间1个扣状突（蜜柑大实蝇有5丛细毛群；柑桔小实蝇后气门新月形，外侧4丛细毛群特多，内侧扣状突较大而明显）。

C.3.3 成虫：体长12 mm~13 mm（不包括产卵器），翅展20 mm~24 mm。黄褐色。胸部背面具鲜黄色和黑褐色条纹，常在正中构成“人”字形纹。胸部具有肩板侧鬃1对，背侧鬃前后各1对，后翅上鬃2对，小盾鬃1对。腹部卵圆形，背面中央有一黑色纵纹与第3腹节前缘黑色横纹交叉成“十”字形纹。雌虫背面可见5节，产卵器3节，基节膨大，与腹部等长，后2节狭小，但长于腹部第5节（蜜柑大实蝇产卵器基节长度为腹部之半，后2节短于腹部第5节）。雄虫背面可见6节，末节短小。

C.3.4 蛹：蛹长8 mm~10 mm，圆筒形，黄褐色，幼虫前后气门遗迹依然存在。

C.4 蜜柑大实蝇

C.4.1 成虫：长10 mm~12 mm，与柑桔大实蝇极相似，不同之处在于具前翅上鬃1对~2对，肩板鬃常2对，中对较粗、发达、黑色。产卵器基节长仅为腹长之半，其后方狭小部分短于第5腹节。

C.4.2 幼虫：前气门宽阔，呈“T”字形，外缘较平直，微曲，有指突33个~35个，后气门裂口周围有细毛群5丛（2,3龄幼虫）。

C.4.3 蛹：蛹体长8.0 mm~9.8 mm，宽3.8 mm~4.5 mm，椭圆形，黄褐色至淡黄色。

C.5 柑桔小实蝇

C.5.1 成虫：长7 mm~8 mm，带深黑色，胸背具小盾前鬃1对。腹部较粗短，背面中央黑色纵纹仅限于第3节~第5节上。产卵器较短小。

C.5.2 幼虫：前气门较窄小，略呈环柱形，前缘有指突10个~13个，排列成行。后气门新月形，具3个长形裂口，其外侧有4丛细毛，每丛细毛特多。

C.5.3 蛹：蛹椭圆形，长5 mm，宽2.5 mm，淡黄色，前端有前气门残留的突起，后端后气门处稍收缩。